

C. I. P. S.

Technical Report

1973/BACT. 03

This paper not to be cited without prior reference to the author.

OVERZICHT VAN VEERTIG FYSIOLOGISCHE EN BIOCHEMISCHE
EIGENSCHAPPEN VAN 67 BENTHISCHE BACTERIEN

door

A. Boeyé, M. Aerts, F. Ronsse en M. De Pelsmaeker

In verband met de mogelijke mineraliserende rol van de heterotrofe bacteriën in het slik werd de bekwaamheid nagegaan van een aantal isolaten, tot het afbreken van substraten die kunnen voorkomen in organische afval. Hoewel enkele resultaten momenteel nog ontbreken is het weinig waarschijnlijk dat het totaalbeeld nog erg zal veranderen bij afwerking.

De bacteriën werden geïsoleerd zoals uiteengezet in ons vorig verslag Bact. 82/73. De kiemen waren voor het merendeel afkomstig van slibscalen uit de Noordzee en voor de rest van slik uit de Spuikom te Oostende (zie voetnota's bij Tabel 2).

Volgende eigenschappen werden nagegaan (Tabel 1) :

- hydrolytische splitsing van vier laagmoleculaire verbindingen (7-10)
- hydrolytische splitsing van zes macromoleculaire substraten (1-6)
- drie redox-eigenschappen (11-13)
- vorming van vier specifieke afbraakprodukten (14-17)
- vorming van zuur en gas uit glucose (18-20)
- vorming van zuur uit 15 andere gluciden (21-35)
- fysiologische eigenschappen : invloed van temperatuur (36-37) zout (38-39) en zuurstof (40) op de groei.

Resultaten

- 1) Proteolytische aktiviteit. De meerderheid (73 %) van de isolaten waren in staat gelatine te vervloeien en de meerderheid van de gelatinevervloeiers losten caseïne op. Wij besluiten dat deze heterotrofe bacteriën in hoge mate proteolytisch zijn.
- 2) Afbraak van glycanen. Nagenoeg de helft van de isolaten waren amylolytisch. Daarentegen werd slechts één agarolytisch en geen enkel cellulolytisch of chitinolytisch isolaat gevonden.

- 3) Laagmoleculaire substraten. De bekwaamheid tot hydrolyseren van lipiden, fosfolipiden en fosforzure esters kwamen respectievelijk in 51 %, 51 % en 70 % van de isolaten voor. Ureum, het voornaamste stikstofuitscheidingsprodukt van de ureotele dieren, werd gesplitst door ruim een kwart (26 %) van de isolaten. De meeste (70 %) splitsten waterstofperoxide en 43 % bezaten oxidase-aktiviteit. Nitraat werd door 58 % van de isolaten gereduceerd.
- 4) Specifieke produkten. Indool en H_2S vormers waren eerder zeldzaam (respectievelijk 0 % en 5 % der isolaten); terwijl de producenten van NH_3 (59 %) en van acetylmethylcarbinol (23 %) frequenter waren.
- 5) Vergisting van gluciden. Precies de helft van de isolaten vormden zuur uit glucose en deze zuurvorming ging nooit gepaard met gasvorming. Alle glucose-positieve stammen vormden ook nog zuur uit andere gluciden. De vergiste gluciden waren, in volgorde van dalend percent positieven :
- | | |
|---|--------------------|
| Fructose | 87 % |
| Maltose, Mannose, Mannitol | 60 - 80 % positief |
| Glycerol, Saccharose, Salicine | 40 - 60 % |
| Lactose, Sorbitol | 20 - 40 % |
| Arabinose, Galactose, Raffinose, Inositol, Xylose | 4 - 20 % |
| Dulcitol | 0 % |
- 6) Zoutvereiste en -tolerantie. Slechts een enkel isolaat was obligaat halofiel (d.w.z. onbekwaam tot groei tenzij NaCl werd toegevoegd). De zouttoleranties varieerden enorm, van ten laagste 3,5 % tot ten hoogste 35 % NaCl.

7) Temperatuurspectrum. Alle kiemen waren in staat tot groei bij 18° (dit is onvermijdelijk zo wegens de selectievoorwaarden).

Op 2 na groeiden alle isolaten eveneens bij 30° en de grote meerderheid groeiden eveneens bij 37°. De meerderheid van de isolaten kan daarom worden beschreven als halotolerant en mesofiel.

Het voorkomen van bacteriën in staat tot groei bij extreem hoge temperaturen (tot 70°C) en in extreme zoutconcentraties (tot 36 %) is merkwaardig te noemen, daar noch deze temperaturen, noch deze saliniteiten ooit optreden in mariene slikken.

8) Algemeen besluit. De hier beschreven kiemen zijn alle aeroob en in hun grote meerderheid mesofiel en halotolerant.

Als groep beschouwd zijn ze enzymatisch goed uitgerust voor de afbraak van eiwitten, zetmeel en een menigte organische verbindingen, alsook voor de reductie van nitraat. Ze zijn dus uiteraard bekwaam tot mineralisatie van de meeste organische afvalprodukten, met nochtans een paar belangrijke uitzonderingen : er werden totnogtoe geen cellulolytische of chitinolytische isolaten gevonden, zodat de hier besproken kiemen de afbraak van twee primordiale polysacchariden niet aankunnen (een versnelde screening op cellulolytische en chitinolytische kiemen zal worden ingesteld). Tenslotte dient erop gewezen dat geen van de gevonden enzymatische bekwaamheden beperkt was tot één van de zeven morfologische groepen waartoe onze isolaten bleken te behoren.

Tabel 1. Geteste biochemische aktiviteiten.

	Naam	Aard van de test
1	Gelatinase	Vervloeiing van een gelatine-gel
2	Caseïne	Oplossing van neergeslagen caseïne
3	Amylase	Splitting van zetmeel tot jodium-negatieve fragmenten
4	Cellulase	Oplossing van cellulose
5	Agarase	Vervloeiing van een agar-gel
6	Chitïnase	Oplossing van chitine
7	Lecithinase	Hydrolyse van lecithine met vrijzetting van de vetzuren
8	Lipase	Hydrolyse van tween-80 met vrijzetting van oliezuur
9	Fosfatase	Hydrolyse van fenolftaleïne monofosfaat met vrijzetting van het fenolftaleïne
10	Urease	Hydrolyse van ureum met vrijzetting van ammoniak
11	Nitraat reductase	Reductieve afbraak van het nitraat-ion
12	Katalase	Splitting van waterstofperoxide met gasvorming
13	Oxidase	Oxydatie van N,N,N',N'-Tetramethyl-p-fenyleen diamine
14	H ₂ S	Productie van H ₂ S uit eiwit en/of thiosulfaat
15	NH ₃	Productie van NH ₃ uit zwavelhoudende aminozuren
16	Indool	Productie van indool uit tryptofaan
17	Voges-Proskauer	Productie van acetylmethylcarbinol uit glucose
18	Gas uit glucose	Productie van gas uit glucose in een eiwithoudend milieu
19	Zuur uit glucose	Productie van organische zuren uit glucose met verzuring tot beneden pH 6,5 (milieu als in 18)
20	Methylroodtest	Productie van genoeg zuur uit glucose om de pH beneden 5 te brengen in een met fosfaat gebufferd milieu
21-35		Zuurproductie (zoals in 19) uit :
	Pentosen	21 Arabinose ; 22 Xylose
	Hexosen	23 Fructose ; 24 Galactose ; 25 Mannose
	Disacchariden	26 Lactose ; 27 Maltose ; 28 Saccharose
	Trisacchariden	29 Raffinose
	Glucosiden	30 Salicine
	Polyolen	31 Dulcitol ; 32 Glycerol ; 33 Inositol ; 34 Mannitol ; 35 Sorbitol
36	Laagste groeitemperatuur	Groei bij 4° en bij 18° in bouillon (7 dagen)
37	Hoogste groeitemperatuur	Groei bij 15°, 30°, ... , 18° in bouillon (7 dagen)

.../...

38	Zoutvereiste	Obligaat halofiel karakter (geen groei in bouillon zonder zout, wel indien 3,5 % NaCl toegevoegd)
39	Zouttolerantie	Groei in bouillon (normaliter 30°, 7 dagen) in aanwezigheid van 35 %, 30 %, ..., 2 % NaCl
40	Dieptegroei	Groei van in slappe agar ingebedde kiemen tot minstens 1 cm onder de oppervlakte (oppervlaktegroei was steeds aanwezig)

Tabel 2

Antal isolaten	Actinomycetales		Sporulales		Asporulales								Totalen				
	a	b	a	b	Gram + Staven		Gram + Coccen		Gram - Staven		Gram - en + coccen		Gram - pleomorf		a	b	c
					a	b	a	b	a	b	a	b	a	b			
	3		23 (1)		19 (2)		6 (3)		8		3		5		67		
1	1	2	20	21	10	13	2	5	1	4	1	3	0	0	35	48	73%
2	1	2	19	22	9	14	4	5	1	5	0	3	0	0	34	51	67%
3	1	2	11	23	8	15	3	6	2	5	1	3	0	2	26	56	46%
4	0	2	0	22	0	12	0	5	0	5	0	3	0	0	0	49	0%
5	1	3	0	23	0	0	0	6	0	8	0	3	0	5	1	48	2%
6	0	0	0	17	0	7	0	5	0	5	0	3	0	0	0	37	0%
7	2	2	13	22	5	13	2	5	1	4	3	3	0	2	26	51	51%
8	1	2	10	22	5	11	4	6	3	5	3	3	0	2	26	51	51%
9	2	3	16	23	9	13	3	6	5	6	3	3	0	0	38	54	70%
10	0	2	5	20	5	18	3	6	0	7	1	3	1	2	15	58	26%
11	0	2	14	22	12	19	2	6	5	7	3	3	1	5	37	64	58%
12	1	2	15	21	15	18	6	6	3	7	3	3	0	4	43	61	70%
13	1	2	7	17	8	17	1	6	3	7	0	3	4	4	24	56	43%
14	0	3	2	22	0	18	0	6	0	7	1	3	0	5	3	64	5%
15	1	2	13	22	12	15	2	5	4	7	1	3	1	4	34	58	59%
16	0	3	0	23	0	16	0	6	0	7	0	3	0	4	0	62	0%
17	0	3	6	20	6	18	1	6	1	8	0	3	0	4	14	62	23%
18	0	2	0	23	0	18	0	6	0	8	0	3	0	5	0	65	0%
19	0	2	17	22	8	18	2	6	1	6	1	3	1	3	30	60	50%
20	0	2	2	21	4	17	0	6	0	8	1	3	0	3	7	60	11%

Voetnota's van Tabel 2

a = aantal positieve testen

b = aantal geldige testen

(N.B. elke test, waarbij de kiem in het beschouwde milieu niet tot ontwikkeling kwam, wordt als ongeldig beschouwd)

c = % positief = $100 \times a/b$

(1) 8 van deze isolaten zijn afkomstig van materiaal van de
Spuikom in Oostende

(2) 1 isolaat uit Spuikom

(3) 4 isolaten uit Spuikom

Tabel 3

	Actinomy- cetales		Sporulales		Asporulales								Totalen				
					Gram + Staven		Gram + Coccen		Gram - Staven		Gram - en + coccen					Gram - pleomorf	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	c		
Antal isolaten	3		23		19		6		8		3		5		67		
36 4°	1		12		7		2		7		1		5		35	56 %	
18°	2	2	22	22	17	17	5	5	8	8	3	3	5	5	62	100 %	
75°	0		0		0		0		0		0		0		0	0 %	
70°	0		1		0		0		0		1		0		2	3 %	
65°	0		4		3		0		1		1		1		10	17 %	
57°	0		5		4		0		4		1		1		15	25 %	
37 50°	0		8		6		0		4		1		3		22	37 %	
44°	1		10		11		0		4		2		4		32	53 %	
37°	1		22		14		3		7		3		4		54	90 %	
30°	2		22		16		5		7		3		4		59	98 %	
18°	2	2	22	22	16	16	5	5	8	8	3	3	4	4	60	100 %	
38	1	3	0	23	0	19	0	6	1	8	0	3	0	5	2	67	3 %
35°	0		0		1		0		0		0		0		1	2 %	
30°	0		0		1		0		0		1		0		2	3 %	
25°	0		0		2		0		0		1		0		3	5 %	
20°	0		5		4		1		1		3		1		15	24 %	
39 15°	0		8		8		3		2		3		1		25	40 %	
10°	1		13		11		4		2		3		2		36	58 %	
7°	1		17		14		6		8		3		3		52	84 %	
3,5°	2		23		17		6		8		3		3		62	100 %	
2°	2	2	23	23	17	17	6	6	8	8	3	3	3	3	62	100 %	
40	0	2	1	21	0	14	2	6	0	6	0	3	0	3	3	55	5 %

Tabel 4

	Actino- mycetales		Sporu- lales		Asporulales								Totalen			
	a	b	a	b	Gram +	Gram +	Gram -	Gram - en +	Gram -							
					staven	coccen	staven	coccen	pleomorf							
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	c			
Aantal isolaten	0		18		8	2	1		1		1		31			
21			1	18	1	7	0	1	0	1			2	27	7 %	
22			2	18	1	7	0	1	0	1			3	27	11 %	
23			15	16	7	8	1	2	1	1	1	0	1	25	29	87 %
24			4	17	1	7	0	1	0	1			5	26	19 %	
25			12	17	4	7	0	1	1	1			17	26	65 %	
26			3	18	2	8	1	2	0	1	1	1	0	7	31	23 %
27			12	18	3	7	1	1	1	1			17	27	63 %	
28			8	18	5	8	1	2	0	1	1	1	1	16	31	52 %
29			1	18	0	7	0	1	0	1			1	27	5 %	
30			6	11	2	3	0	0	0	1			8	15	53 %	
31			0	18	0	7	0	1	0	1			0	27	0 %	
32			8	18	4	7	1	1	1	1			14	27	52 %	
33			0	18	1	7	0	1	0	1			1	27	4 %	
34			11	18	6	8	1	1	0	1	0	1	18	30	60 %	
35			4	18	1	7	0	1	1	1			6	27	22 %	